



Albino Farelerde Paraben Tarafından Oluşturulan Genotoksitenin Araştırılması: Isırgan Otu Özütünün Koruyucu Rolü

Baran SEVEN^{1*}, Emine YALÇIN¹, Ali ACAR², Kürşad YAPAR³, Kültiğın ÇAVUŞOĞLU¹

¹Giresun Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 28100 Güre Yerleşkesi, Giresun, TÜRKİYE

²Giresun Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikleri Bölümü, 28100 Güre Yerleşkesi, Giresun, TÜRKİYE

³Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji A.B.D., 28100, Giresun, TÜRKİYE

Received: 29.03.2017; Accepted: 01.06.2017

<http://dx.doi.org/10.17776/csj.340515>

Özet: Bu çalışmada gıda, ilaç ve kozmetik alanlarında sıkça kullanılan kimyasal maddelerden biri olan Paraben'in Swiss albino farelerde muhtemel fizyolojik ve genotoksik etkileri ile bu etkilere karşı ısırgan otu özütünün koruyucu rolü araştırılmıştır. Fizyolojik etkiler; canlı ağırlık ve karaciğer-böbrek organ ağırlıklarının ölçümüyle, genotoksik etkiler; eritrosit hücrelerindeki mikronukleus (MN) sıklığının ve kemik iliği hücrelerinde kromozomal hasar oluşumunun tespitiyle değerlendirilmiştir. Fareler her grupta altı (6) hayvan olacak şekilde toplam altı (6) gruba ayrılmış, kontrol grubundaki fareler çeşme suyu, uygulama grubundaki fareler ise ısırgan otu özütünün 125 mg/kg c.a ve 250 mg/kg c.a dozlarıyla ve Paraben'in 150 mg/kg c.a dozuyla beslenmişlerdir. Paraben uygulaması canlı ağırlıklarda ve organ ağırlıklarında istatistiksel açıdan önemli bir azalmaya neden olurken, MN ve kromozomal anormallik sıklığında ise önemli bir artışa neden olmuştur. Isırgan otu özütü uygulaması ise Paraben'in söz konusu olumsuz etkilerini iyileştirerek, tüm parametrelerde doza bağlı bir iyileşme göstermiştir. Sonuç olarak ise ısırgan otu özütünün, Paraben ya da diğer kimyasallara maruz kalındığında bunların olumsuz etkilerini tersine çevirmek amacıyla koruyucu bir ürün olarak değerlendirilebileceği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Paraben, Isırgan Otu Özütü, Genotoksisite, Kromozom Anormallikleri, MN, Fizyoloji.

Investigation of Genotoxicity Caused by Paraben in Albino Mice: Protective Role of Nettle Extract

Abstract: This study researches into the potential physiologic and genotoxic effects of Paraben, which is one of the most frequent chemical substance used in cosmetic and drug sectors, in Swiss Albino mice and the protective role of nettle extract against these effects. The study analyzes the physiologic effects by measuring the live weight, liver and kidney weight, whilst determining the genotoxic effects by frequency of micronucleus (MN) on erythrocyte cells and determining the chromosomal damage on bone marrow cells. Mice used in this research were divided into six groups in total comprising of 6 mice in each group, while the mice in control group were fed with tap water, the mice in treatment group were fed with 120 mg/kg b.w. and 250 mg/kg b.w. doses of nettle extract, and 150 mg/kg b.w. dose of Paraben. While application of the Paraben led to a significant statistical decrease in live and organ weights, caused to a significant increase in MN and chromosomal abnormalities frequency. Application of nettle extract healed the negative effects of Paraben, and revealed an important recovery in all parameters depending on doses. As a result, it was determined that nettle extract can be evaluated as a protective product to reverse the of Paraben and other chemicals when it exposed to them.

Keywords: Paraben, Nettle extract, Genotoxicity, Chromosomal abnormalities, MN, Physiology.

1. GİRİŞ

Kozmetik ürünler, insan vücudunun tırnak, saç ve dudak gibi dış kısımları ile ağız mukozası ve diş uygulanmak üzere hazırlanmış kimyasal maddelerdir. Temel amaçları söz konusu kısımlara koku vermek, görünümünü değiştirmek, temizlemek, korumak ve iyi bir durumda tutmaktır [1]. Kozmetik ürünlerin kullanımına bağlı olarak özellikle ciltte bir miktar kimyasal madde kalmaktadır. Bu kalıntı ise insan sağlığı açısından istenmeyen etkilere yol açabilmektedir [2]. İlaç ve kozmetik sektöründe en sık kullanılan kimyasal maddelerden biri de parabenlerdir [3].

Parabenler; ilaç, yiyecek ve kozmetik sektörlerinde sıklıkla kullanılan koruyucu maddelerdir. Etil, metil, propil ve butil esteri şeklinde 4 paraben türü bulunmaktadır. Özellikle propil ve metil paraben esterleri, fungal ve bakteriyel kontaminasyonu önlemek amacıyla kozmetik ürünlerde ve topikal ilaçlarda sıklıkla kullanılan başlıca koruyuculardır. Parenteral olarak kullanılan pek çok ilaçta da koruyucu madde olarak yine paraben bulunmaktadır. Bu ilaçlar arasında antibiyotikler, vitaminler, lokal anestezipler, anti-hipertansifler, kortikosteroidler, diüretikler, heparin, insülin ve bazı kemoterapitik ajanlar sayılabilir. Ayrıca bazı temizlik ve gıda maddeleri de paraben içerebilirler. Parabenler kokusuz, renksiz ve uçucu kimyasallardır. Geniş antimikrobiyal etki spektrumuna sahip olmaları, daha az iritasyona yol açmaları, daha az oranda duyarlanmaya neden olmaları ve kozmetiklerdeki geniş pH aralığı içinde stabil kalabilmeleri gibi nedenlerden dolayı ideal bir koruyucu olarak tanımlanmışlardır [4-6]. Parabenlere karşı duyarlı kişilerde; deride kızarıklık, şişlik, kaşıntı ve ağrı bulguları rapor edilmiştir. Yapılan çalışmalarda, içerisinde parabenlerin kullanıldığı ürünleri tüketen ve göğüs kanserine yakalanan insanların kanserli dokularında parabene rastlanılmıştır. Söz konusu birikimin, parfüm, deodorant, krem, güneş yağları ve çeşitli makyaj ürünlerinin kullanımı sonucunda ciltten absorbe edilmek suretiyle gerçekleştiği anlaşılmıştır. Dokulara yerleşen parabenlerin östrojen hormon seviyesinde artışa neden olarak

hormon homeostozisini bozmak suretiyle tümör oluşturduğu değerlendirilmiştir [7].

Son yıllarda kimyasalların sebep olduğu toksisiteyi azaltmada biyolojik kökenli ürünler kullanılmaktadır. Örneğin; oksidatif strese maruz kalan ratlarda meyve fenolik bileşiklerinin koruyucu rolü [8], sisplatin'in sıçan böbrek ve karaciğer dokularında sebep olduğu toksisiteyi azaltmada nar suyu özütünün koruyucu rolü [9], Kadmiyum toksisitesini azaltmada ise *Dermatocarpon intestiniforme* (Körber) Hasse ekstraktı kullanılmıştır [10]. Bu çalışmada ise Paraben'in sebep olduğu toksisiteyi azaltmak amacıyla ısırgan otu özütü kullanılmıştır.

Isırgan otu (*Urtica dioica* L.); Urticaceae familyasına ait ılıman bölgelerde yetişen yabani bir ottur. Tohum ve kök ile çoğalan, yayılışı yavaş olan ve yıl boyunca yetişen bir bitkidir. Gövdesi ve yaprakları yakıcı tüylerle kaplanmıştır. Yakıcı tüyelerine dokunulduğunda deride histamin, serotonin, 5-hidroksitriptamin, asetilkolin ve salınımına sebep olarak yakıcı etki göstermektedir [11]. Isırgan otu yüzyıllardan beri tedavi amacıyla kullanılan şifalı otlardan biridir. Yaprak ve tohumları yara, ekzama, basur, apse, romatizmal ağrılar, iç hastalıkları, karaciğer yetmezliği, diyabet, deri enfeksiyonları, burun kanamaları ve kanser gibi pek çok hastalığın tedavisinde yaygın şekilde kullanılmakta, içeriğinde ise potasyum tuzları, histamin, asetikolin, C vitamini ve formik asit bulunmaktadır. Isırgan otunun kendisi, tohumu ve kökleri yenerek ya da bitki çayları şeklinde içilmek suretiyle kullanılabilir [12-14].

Bu çalışmanın amacı ilaç ve kozmetik ürünlerin bileşiminde yaygın olarak kullanılan Paraben'in muhtemel fizyolojik ve genotoksik etkilerini Swiss albino farelerde gözler önüne sermek, bu etkilere karşı ise ısırgan otu özütünün koruyucu rolünü test etmektir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyaller

Isırgan otu özütü (100 kapsül) Sepe Natural Products'tan temin edilmiştir (T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı İşletme Kayıt Numarası TR-35-K-000853). Paraben ($C_8H_8O_3$) Sigma Chem. Co.'dan, diğer bütün kimyasallar analitik saflıkta Merck'ten alınmıştır.

2.2. Hayvanların Temini

Çalışmada toplam 36 adet 12-14 haftalık, 25-30 g ağırlığında erkek *Mus musculus* var. albino fare kullanılmıştır. Fareler 26x15x50 cm paslanmaz çelik kafeslerde, 22±3 °C de, % 55±5 bağıl nem içeren laboratuvar şartlarında ve deney boyunca 12 saat ışık / karanlık döngüsü altında tutulmuştur. Hayvanlara çalışmaya başlamadan 1 hafta önce standart pellet diyet yem ve ad libitum su verilerek ortam şartlarına adaptasyonu sağlanmıştır. Bu

çalışmada, farelere uygulanan yöntem ve teknikler Dünya Sağlık Örgütü (Cenevre, İsviçre) ve Giresun Üniversitesi Deneysel Hayvanları Yerel Etik Kurulu tarafından belirlenen esaslara göre yürütülmüştür (Etik Kurul Karar No: 2014/2).

2.3. Deneysel Protokolü

On (10) haftalık uygulama periyodu süresince, kontrol grubundaki fareler çeşme suyu, uygulama grubundaki fareler ise 150 mg/kg c.a dozunda paraben ile ısırgan otunun 125 ve 250 mg/kg c.a dozlarıyla muamele edilmişlerdir. Literatürdeki diğer çalışmalar ve LD₅₀ değerleri incelenerek uygun olan en düşük doz seviyeleri belirlenmiş olup [15-18], gruplar ve grup oluşturma prensibi Tablo 2.1'de verilmiştir. Uygulama periyodundan bir hafta önce hayvanlar standart pellet yem ve çeşme suyu ile beslenerek ortama adaptasyonları sağlanmıştır.

Tablo 2.1. Deneysel grupları Oluşturma Prensibi.

Grup	Fare sayısı	Uygulama
Grup I	6	Kontrol
Grup II	6	125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü
Grup III	6	250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü
Grup IV	6	150 mg/kg c.a Paraben
Grup V	6	150 mg/kg c.a. Paraben + 125mg/kg c.a ısırgan otu özütü
Grup VI	6	150 mg/kg c.a. Paraben + 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü

Farelerin beslenme zincirinde ısırgan otu bulunmamaktadır. Bu nedenle ısırgan otu uygulamasının oluşturabileceği toksik, alerjik durumları gözlemlemek için Grup V ve VI'da, ısırgan otu özütü uygulamasına paraben maruziyetinden 7 gün önce başlanmış ve paraben uygulamasından sonra ise 10 hafta süresince paraben ile birlikte devam edilmiştir. Uygulama periyodunun sonunda fareler eterle bayıltılarak dikkatli bir şekilde sakrifiye edilmiştir.

2.4. Canlı Ağırlık ve Organ Ağırlıklarının Tespiti

Albino fareler eter anestezisi altında bayıltıldıktan sonra uygulama periyodu öncesi ve sonrasında hassas terazi yardımıyla canlı ağırlıkları, sakrifiye edildikten sonra ise yine hassas terazi yardımıyla organ ağırlıkları tespit edilmiştir.

2.5. Eritrosit Mikronukleus (MN) Testi

Fare Eritrosit Mikronukleus (MN) testi, kemik iliği polikromatik eritrositlerinde uygulanan geleneksel MN testinin modifiye bir şeklidir. Bu testte, farelerin kuyruklarından elde edilen dolaşım kanındaki olgun normakromatik eritrositler sayılmaktadır. Fare eritrosit MN testi Te-Hsiu ve ark. [19] bildirdiği yöntemle göre yapılmıştır. Kısaca, fareler eter anestezi altında bayıltılmış ve farelerin kuyruk venlerinden küçük bir iğne yardımıyla kan örnekleri alınmıştır. Her bir fareden toplanan periferik kanın yaklaşık 5 µL'si % 3 EDTA (5 mL) çözeltisi ile karıştırılmış ve temiz lamalar üzerine yayılmıştır. Eritrositler 2 dakika süreyle %70'lik etanol içinde fiske edilmiş ve hazırlanan slaytlar oda sıcaklığında bir gece kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra, slaytlar % 5'lik May-Grünwald Giemsa ile 15 dakika süresince boyanarak, süre sonunda saf su ile yıkanmıştır. Her grup için hazırlanan slaytlardaki MN sıklığı iki farklı gözlemci tarafından art arda iki defa sayılmıştır. Her bir fare için hazırlanan slaytlardan toplam 1000, bir grup için toplam 6000 normakromatik eritrosit, araştırma mikroskobu (Nikon Eclipse E100) altında X100 büyütmede sayılarak MN'li hücrelerin sayısı tespit edilmiştir.

2.6. Kromozom Analiz Yöntemi

Farelere sakrifiye edilmeden 2 saat önce intraperitoneal (ip) yolla 0.025% kolşisin verilmiş ve süre sonunda eter anestezi altında sakrifiye edilmişlerdir. Daha sonra sırasıyla femurdan kemik iliği aspire edilmiş, serum fizyolojik ile yıkanmış, 0.075 M KCl ile muamele edilip, Carnoy's ile fikse edilerek, % 5'lik Grünwald-Giemsa boyası ile boyanmıştır. Son olarak ise kromozomal hasarlar araştırma mikroskobu (Nikon Eclipse E100)

altında X100 büyütmede belirlenerek Savage [20]'nin bildirdiği kriterlere göre sınıflandırılmıştır.

2.7. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel verilerin analizi için SPSS for Windows V 22.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA,2013) paket programı kullanılmıştır. Gruplar arasında istatistiksel farklılıkların değerlendirilmesi One-way ANOVA ve Duncan testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Veriler ortalama ± Standart Sapma (SD) olarak verilmiş ve P değeri 0.05'den küçük olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

Paraben uygulamasının canlı ağırlık üzerine etkisi Tablo 3.1'de verilmiştir. Tablo'daki sonuçlar incelendiğinde, uygulama periyodunun sonunda en fazla ağırlık artışı kontrol grubu ile sadece ısırğan otu özütü uygulanan Grup II ve Grup III'de tespit edilmiştir. Söz konusu gruplarda sırasıyla 9,22 gr, 9,80 gr ve 9,65gr'lık bir ağırlık artışı belirlenmiş, ayrıca gruplar arasındaki bu ağırlık farklarının istatistiksel açıdan önemli olmadığı da gözlenmiştir (P>0.05). En az ağırlık artışı ise sadece 150 mg/kg c.a dozunda Paraben uygulanan Grup IV'de gözlenmiştir. Söz konusu grupta 2.48 gr ağırlık artışı tespit edilmiştir. Paraben uygulaması ile birlikte ısırğan otu özütü ile beslemenin Grup V ve Grup VI'da ağırlık kazanımında tekrar bir artış neden olduğu, bu artışın uygulanan ısırğan otu özütünün dozuyla doğru orantılı olduğu ve sadece paraben uygulanan gruba göre istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir (P<0.05).

Tablo 3.1. Paraben'in canlı ağırlık (gr) üzerine etkileri.

Gruplar	Başlangıç Ağırlığı	Son Ağırlık	Ağırlık Artışı
Grup I	24.86±0.51 ^e	34.08±2.33 ^a	+9.22
Grup II	24.39±0.62 ^e	34.19±1.43 ^a	+9.80
Grup III	24.39±1.30 ^e	34.04±1.55 ^a	+9.65
Grup IV	24.15±0.95 ^e	26.63±1.35 ^d	+2.48
Grup V	24.47±1.13 ^e	28.34±1.49 ^c	+3.87
Grup VI	24.65±0.43 ^e	30.83±0.76 ^b	+6.18

Grup I, Kontrol; Grup II, 125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü; Grup III, 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü; Grup IV, 150 mg/kg c.a Paraben; Grup V, 150 mg/kg c.a. Paraben + 125mg/kg c.a ısırgan otu özütü; Grup VI, 150 mg/kg c.a. Paraben + 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 6). Ortalamalar arasında ki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" ANOVA varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Paraben'in karaciğer ve böbrek organ ağırlıklarında meydana getirmiş olduğu değişiklikler Tablo 3.2'de verilmiştir. Karaciğer ve böbrek organ ağırlıklarındaki en fazla azalmanın sadece Paraben uygulama grubu olan Grup IV'de, en az ise kontrol ve ısırgan otu özütünün iki farklı dozu ile beslenen Grup II ve Grup III'de olduğu tespit edilmiştir. Bu gruplarda karaciğer organ ağırlıkları sırasıyla 1.10 gr, 1.58 gr, 1.60 gr ve 1.58 gr olarak, böbrek ağırlıkları ise sırasıyla 0.24 gr,

0.53 gr, 0.50 gr ve 0.51 gr olarak tespit edilmiştir. Ayrıca Grup IV'de ki azalmanın diğer üç gruba göre istatistiksel açıdan önemli olduğu da belirlenmiştir (P<0.05). Paraben ile birlikte ısırgan otu özütünün iki farklı dozu ile besleme, Grup V ve Grup VI'de ki farelerin karaciğer ve böbrek organ ağırlıklarında doza bağlı olarak tekrar bir artışa sebep olmuştur. Söz konusu artışın ise sadece Paraben uygulanan Grup IV'de göre istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0.05).

Tablo 3.2. Paraben'in karaciğer ve böbrek organ ağırlığı (gr) üzerine etkileri.

Gruplar	Karaciğer Organ Ağırlığı	Böbrek Organ Ağırlığı
Grup I	1.65±0.05 ^a	0.53±0.05 ^a
Grup II	1.67±0.03 ^a	0.50±0.08 ^a
Grup III	1.66±0.06 ^a	0.51±0.04 ^a
Grup IV	1.10±0.06 ^d	0.24±0.03 ^d
Grup V	1.22±0.08 ^c	0.31±0.02 ^c
Grup VI	1.40±0.11 ^b	0.39±0.04 ^b

Grup I, Kontrol; Grup II, 125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü; Grup III, 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü; Grup IV, 150 mg/kg c.a Paraben; Grup V, 150 mg/kg c.a. Paraben + 125mg/kg c.a ısırgan otu özütü; Grup VI, 150 mg/kg c.a. Paraben + 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 6). Ortalamalar arasında ki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" ANOVA varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Paraben'in eritrosit hücrelerinde teşvik ettiği MN sıklığı Tablo 3.3'de verilmiş ve Şekil 3.1'de gösterilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde

Paraben uygulamasının eritrosit hücrelerinde MN oluşumuna sebep olduğu belirlenmiştir. Sadece Paraben ile beslenen Grup IV'de ki farelerin

eritrosit hücrelerinde ortalama 46.17 oranında MN oluşumuna rastlanırken, en az MN oluşumu ise kontrol ve sadece ısırgan otu özütünün iki farklı dozu ile beslenen Grup II ve Grup III'de ki farelerin eritrosit hücrelerinde tespit edilmiştir. Söz konusu gruplarda sırasıyla 1.00, 1.17, ve 0.83 oranında MN gözlenmiştir. Ayrıca Grup IV'de gözlenen MN oranının bu gruplara göre istatistiksel açıdan önemli olduğu da belirlenmiştir ($P<0.05$). Paraben ile birlikte ısırgan otu özütünün iki farklı dozu ile besleme Grup V ve Grup VI'de ki farelerin eritrosit hücrelerindeki MN sayısında azalmaya sebep olmuş, söz konusu azalmanın ise uygulanan ısırgan otu özütünün dozuyla doğru orantılı olduğu tespit edilmiştir.

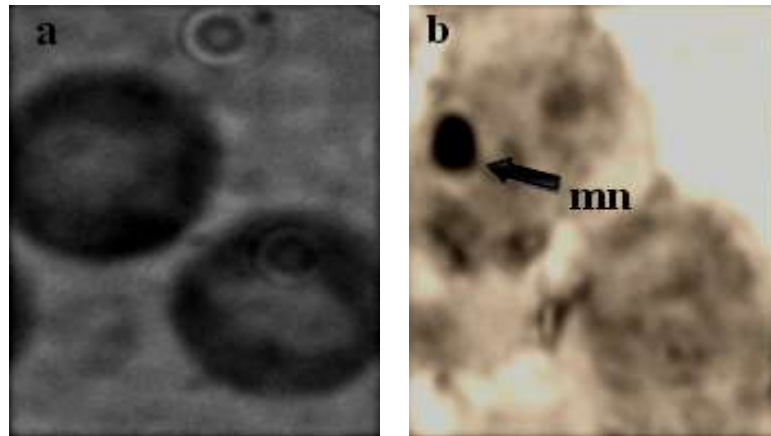
Paraben'in kemik iliği hücrelerinde teşvik ettiği kromozomal hasarlar Tablo 3.4'de gösterilmiştir.

Tablodaki veriler incelendiğinde sırasıyla; kromatit kırığı > fragment > gap > ring > asentrik > disentrik şeklinde kromozomal hasarlar tespit edilmiştir. En fazla kromozomal hasar sadece Paraben uygulanan grupta (Grup IV), en az ise kontrol ve ısırgan otu özütünün iki farklı dozu beslenen Grup II ve Grup III'de belirlenmiştir. Grup IV'de belirlenen kromozomal hasar sayılarının diğer gruplara göre istatistiksel açıda önemli olduğu da belirlenmiştir ($P<0.05$). Paraben ile birlikte ısırgan otu özütünün iki farklı dozu ile besleme Grup V ve Grup VI'de kromozomal hasar sayılarının azalmasına neden olmuştur. Diğer bir ifadeyle kromozomal hasar sayıları uygulanan ısırgan otu özütünün dozundaki artışla azalmıştır.

Tablo 3.3. Paraben'in eritrosit hücrelerinde teşvik ettiği mikronükleus (MN) sıklığı.

Gruplar	Sayılan Hücre Sayısı	Ortalama MN
Grup I	1000	1.00±1.26 ^d
Grup II	1000	1.17±0.75 ^d
Grup III	1000	0.83±0.98 ^d
Grup IV	1000	46.17±8.52 ^a
Grup V	1000	38.83±3.97 ^b
Grup VI	1000	26.17±4.45 ^c

Grup I, Kontrol; Grup II, 125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü; Grup III, 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü; Grup IV, 150 mg/kg c.a Paraben; Grup V, 150 mg/kg c.a. Paraben + 125mg/kg c.a ısırgan otu özütü; Grup VI, 150 mg/kg c.a. Paraben + 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 6). Ortalamalar arasında ki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" ANOVA varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($P<0.05$).



Şekil 1. Eritrosit hücrelerinde mikronükleusun görünümü, mn: mikronükleus (a: kontrol grubu, b:uygulama grubu).

Tablo 3.4. Kemik iliği hücrelerinde Paraben tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar.

Gruplar	Kromatit Kırığı	Kromozom kırığı				
		Fragment	Gap	Ring	Asentrik	Disentrik
Grup I	00.00±0.00 ^d	00.00±0.00 ^d	00.33±0.52 ^d	00.00±0.00 ^d	00.00±0.00 ^d	00.00±0.00 ^d
Grup II	00.00±0.00 ^d	00.00±0.41 ^d	00.17±0.41 ^d	00.00±0.00 ^d	00.00±0.00 ^d	00.00±0.00 ^d
Grup III	00.00±0.41 ^d	00.00±0.00 ^d	00.33±0.52 ^d	00.00±0.00 ^d	00.00±0.00 ^d	00.00±0.00 ^d
Grup IV	36.33±6.65 ^a	26.17±4.12 ^a	16.00±4.60 ^a	12.00±3.85 ^a	08.33±2.42 ^a	04.83±2.04 ^a
Grup V	26.17±5.15 ^b	21.17±3.97 ^b	12.00±2.90 ^b	07.00±2.00 ^b	04.33±1.86 ^b	02.83±0.98 ^b
Grup VI	20.50±4.76 ^c	14.17±3.19 ^c	07.33±1.75 ^c	05.17±2.04 ^b	02.50±3.33 ^c	01.33±0.51 ^c

Grup I, Kontrol; Grup II, 125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü; Grup III, 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü; Grup IV, 150 mg/kg c.a Paraben; Grup V, 150 mg/kg c.a. Paraben + 125mg/kg c.a ısırgan otu özütü; Grup VI, 150 mg/kg c.a. Paraben + 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 6). Ortalamalar arasında ki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" ANOVA varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).Kromozomal hasarlar için her hayvan başına 100 hücre, her grupta 6 hayvan bulunduğu için toplamda 600 hücre sayıldı. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" ANOVA varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yaptığımız çalışmada Paraben'in albino farelerde meydana getirdiği fizyolojik, sitotoksik ve biyokimyasal etkiler ile bu etkilere karşı ısırgan otu özütünün koruyucu rolü araştırılmıştır. Paraben'in, günlük hayatımızda kullandığımız başta kozmetik ürünler olmak üzere ilaç ve besin maddelerinin de içeriğinde bulunması, yaptığımız çalışmanın önemini bir kat daha arttırmıştır.

Deneyssel araştırmalar sonucunda, Paraben uygulamasının Swiss albino farelerde fizyolojik parametreler olan canlı ağırlık ve organ ağırlıklarında azalmaya neden olduğu, ısırgan otu özütü uygulamasının ise doza bağlı olarak söz konusu parametrelerde tekrar bir iyileşmeye yol açtığı belirlenmiştir. Litarütürde elde ettiğimiz verileri destekleyen tarzda benzer çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin CTFA [21] tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, 0.7% Metil Paraben ve 0.3% Propil Paraben içeren ürünler günlük 4.12 g/kg dozunda albino ratlara toplam vücut yüzeylerinin traş edilmesi suretiyle uygulanmış, sonuçta kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, uygulama grubundaki ratların vücut ağırlıklarında önemli bir azalma meydana geldiği rapor

edilmiştir. Matthews ve ark. [22] tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, 96 hafta süresince %2 ve %8'lik Metil Paraben ve Propil Paraben içeren diyetle beslenen ratlar da vücut ağırlığındaki değişim araştırılmış, sonuçta özellikle %8'lik diyet ile beslenen ratların vücut ağırlıklarında önemli bir azalma meydana geldiği tespit edilmiştir. Oishi [23] tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise, Wistar ratlar günlük diyetlerine ek olarak %0.01, %0.10 ve %1.00 oranında Propil Paraben ile 4 hafta süresince beslenmişler, sonuçta uygulama dozuna bağlı olarak vücut ağırlığının kontrol grubuna göre azaldığı belirlenmiştir. Vo ve ark. [24] tarafından 8 haftalık dişi Sprague-Dawley (SD) ratlarla gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, günlük 62.5 mg/kg c.a. 250 mg/kg c.a. ve 1000 mg/kg c.a. dozlarında Etil Paraben ve İzopropil Paraben uygulamış, sonuçta her iki Paraben türevinde 1000 mg/kg c.a. dozunda böbrek organ ağırlığında azalmaya neden olduğu, İzopropil Paraben'in ise tüm uygulama dozlarında karaciğer organ ağırlığını azalttığı bildirilmiştir.

Bu çalışmada Paraben'in genotoksik etkileri ve bu etkilere karşı ısırgan otu özütünün koruyucu rolü de araştırılmıştır. Bu amaçla mikronukleus (MN)

oluşumu ve kromozomal hasarlar genotoksisitenin indikatörleri olarak kullanılmışlardır. Sonuçta Paraben uygulamasının MN ve kromozomal hasar oluşumuna neden olduğu, ısırgan otu özütünün ise doza bağlı olarak bu hasarların sayılarını azalttığı tespit edilmiştir. Literatür de elde ettiğimiz bulguları destekleyen tarzda gerek Paraben gerekse de diğer kimyasallarla gerçekleştirilmiş bazı çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin Ishidate ve ark. [25] tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada Chinese hamster hücrelerine farklı dozlarda Metil Paraben, Etil Paraben ve Propil Paraben uygulanmış, sonuçta söz konusu Paraben türlerinin kromatid kırığı, gap ve ring şeklinde hasarlara neden olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, günlük yaşamımızda başta kozmetik ürünler olmak üzere, pek çok ürünün bileşiminde yer alan Paraben'in Swiss albino farelerde toksik etkilere neden olduğu, ısırgan otu özütünün ise bu etkileri tersine çevirerek tekrar iyileşmeyi teşvik ettiği belirlenmiştir. Bu nedenle Paraben'in kullanımından vazgeçilmeli ya da üretim sektörü için çok elzem ise uygun doz eşiği belirlendikten sonra kullanılmalıdır. Ayrıca ısırgan otu özütü de Paraben ya da diğer kimyasallara maruz kalındığında bunların olumsuz etkilerini tersine çevirmek amacıyla koruyucu bir ürün olarak değerlendirilebilir.

Teşekkür

Bu çalışma Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi tarafından FEN-BAP-C-250414-11 kodlu proje kapsamında desteklenmiştir. Bu projeye maddi destek sağlayan Giresun Üniversitesi BAP birimine teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- [1] Sağlık Bakanlığı. 2005. *Kozmetik Kanunu*.
- [2] Türkoğlu M., Pekmezci E. *Kozmetolojiye Giriş*. ARGOS İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve Ticaret A.Ş., İstanbul, 2003.
- [3] Sezgin D. Yaşam tarzı önerileri bağlamında sağlık haberlerinin analizi.

- Ankara Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi* 2011; 2(2): 52-78.
- [4] Çalka Ö., Karadağ A.S., Akdeniz N., Bilgili S.G. Türkiye'nin doğusunda kontakt dermatitli hastalarda deri yama testi sonuçları. *Türk dermat* 2011; 45: 19-23.
 - [5] Anderson F.A. Final report on the safety assessment of isobutylparaben an disopropylparaben. *Journal of the American College of Toxicology* 1995; 14(5): 364-372.
 - [6] Rietschel R.L, Fowler J.F. *Fisher's Contact Dermatitis*. Baltimore. Williams and Wilkins, 1995.
 - [7] Arslan G. *Gıda Katkı Maddeleri ve Yeni Yapılan Dioksimlerin Gıda Katkı Maddesi Olarak Kullanılabilirliğinin Araştırılması*. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 2011.
 - [8] Özşahin A.D., Yılmaz Ö., Tuzcu M. Oksidatif Strese Maruz Kalan Ratların Eritrositlerinde Lipid Peroksidasyonu Oluşumu Üzerine Meyve Fenolik Bileşiklerinin Koruyucu Rolü. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi* 2011; 25(1): 37-41.
 - [9] Bakır S. *Sisplatinin sıçan böbrek ve karaciğer dokusu üzerindeki toksit etkisine karşı nar suyu özütünün koruyucu etkinliğinin araştırılması*. Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 2015.
 - [10] Guner A., Turkez H., Aslan A. İn Vitro Şartlarda Kadmiyumun Oluşturduğu Genetik ve Oksidatif Hasara Karşı Dermatocarpon intestiniforme (Liken) Ekstrelerinin Etkisi. *Ekoloji* 2012; 21(84), 38-46.
 - [11] Weber R.W. Stinging nettle. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2003; 90: A6. In: Tello S., Halifeoğlu İ., Bozkurt M., Bulmuş Ö.Meme Kanseri Oluşturulmuş Ratlarda ısırgan Otunun Total Antioksidan Durumu Üzerine Etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi* 2008; 22(4): 179.
 - [12] Turel I., Oto G., Ayaz E., Yılmaz O., Mercan U. Anthelmintic activity of *Urtica*

- dioica L. in mice naturally infected with *Aspicularis tetraptera*. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 2008; 7(12): 1642-1644.
- [13] Sezik E., Yesilada E., Honda G., Takaiishi Y., Takeda Y., Tanaka T. Traditional medicine in Turkey. X. folk medicine in central anatolia. *Journal of Ethnopharmacology* 2001; 75 (2-3): 95-115.
- [14] Gözüm S., Tezel A., Koc M. Complementary alternative treatment used by patients with cancer in eastern Turkey. *Cancer Nursing* 2003; 26: 230-236.
- [15] Matthews C., Davidson J., Bauer E., Morrison J.L., Richardson A.P. p-Hydroxybenzoic Acid Esters as Preservatives II.: Acute and Chronic Toxicity in Dogs, Rats, and Mice. *Journal of the American Pharmaceutical Association (Scientific ed.)* 1956; 45 (4): 260-267.
- [16] Adler-Hradecky C., Kelentey B. On the toxicity and local analgesic activity of p-hydroxybenzoic acid esters. *Archives Internationales De Pharmacodynamie Et De Therapie* 1960; 128: 135-142
- [17] Golalipour M.J., Khori V. The protective activity of *Urtica dioica* leaves on blood glucose concentration and beta-cells in streptozotocin-diabetic rats. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 2007; 10(8): 1200-1204.
- [18] Bnouham M., Merhfour F.Z., Ziyat A., Mekhfi H., Aziz M., Legssyer, A. Antihyperglycemic activity of the aqueous extract of *Urtica dioica*. *Fitoterapia* 2003; 74(7): 677-681.
- [19] Te-Hsiu M.A., Zhou X., Loarco G.F., Arreola G.G., Lecona S.U. Mouse-erythrocyte micronucleus (MUS-EMN) assay on the clastogenicity of industrial waste water. *Rev. Int. Contam. Ambient* 1995; 11: 95-98.
- [20] Savage J.R. Classification and relationships of induced chromosomal structural changes. *Journal of Medical Genetics* 1976; 13(2): 103-122.
- [21] CTFA. Thirteen-week subchronic dermaltoxicity study in albino rats with medicated cream containing methyl paraben and medicated lotion containing propyl paraben. 1981; Study Project Code AT0165. CTFA Code No. 2-7-113.
- [22] Matthews C., Davidson J., Bauer E., Morrison J.L., Richardson A.P. p-Hydroxybenzoic acid esters as preservatives. II. Acute and chronic toxicity in dogs, rats, and mice. *Journal of American Pharmaceutical Association* 1956; 45: 260-267.
- [23] Oishi S. Effects of propyl paraben on the male reproductive system. *Food and Chemical Toxicology* 2002; 40(12): 1807-1813.
- [24] Vo T.T., Yoo Y.M., Choi K.C., Jeung E.B. Potential estrogenic effect (s) of parabens at the prepubertal stage of a postnatal female rat model. *Reproductive Toxicology* 2010; 29(3): 306-316.
- [25] Ishidate M., Hayashi M., Sawada M., Matsuoka A., Yoshikawa K., Ono M., Nakadate M. Cytotoxicity of medical drugs. Chromosome aberration tests in Chinese hamster cells in vitro. *Eisei Shikensho Hokoku* 1978; 96: 55-61.